

ŁUKASZ KONOPKA, EWA BRZEZIŃSKA-BŁASZCZYK

Mediatory reakcji immunologiczno-zapalnej jako biomarkery zapaleń przyzębia*

Mediators of Immuno-Inflammatory Reaction as Biomarkers of Periodontitis

Zakład Immunologii Doświadczalnej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Streszczenie

Zapalenie tkanek w przebiegu chorób przyzębia jest modulowane przez odpowiedź gospodarza na gromadzącą się płytkę bakteryjną w szczelinie lub kieszonce dziąsłowej i prowadzi do destrukcji aparatu zawieszeniowego zęba. Tradycyjna diagnostyka periodontologiczna jest oparta niemal wyłącznie na ocenie klinicznej i radiologicznej. Obecnie sugeruje się, że miejscowa odpowiedź organizmu w przebiegu chorób przyzębia mogłaby być ewaluowana na podstawie analizy płynu kieszonki dziąsłowej (GCF). Badanie czynników humoralnych występujących w GCF może mieć dużą wartość diagnostyczną, gdyż GCF jest źródłem wielu czynników biorących udział w reakcji immunologiczno-zapalnej. Obecność i odpowiednie stężenia czynników humoralnych w GCF może znaleźć zastosowanie w ocenie aktywności choroby przyzębia oraz wyników zastosowanej terapii. W pracy przedyskutowano przydatność diagnostyczną białek ostrej fazy oraz kalprotektyny, białka uważanego za marker chorób zapalnych. Autorzy opisują również mediatory lipidowe reakcji immunologiczno-zapalnej, tj. prostaglandynę E₂, leukotrien B₄ oraz czynnik aktywujący płytki. Określono także użyteczność diagnostyczną neopteryny, wczesnego i przydatnego markera odporności komórkowej oraz neuropeptydów (*Dent. Med. Probl.* 2011, 48, 2, 236–242).

Słowa kluczowe: zapalenie przyzębia, płyn kieszonki dziąsłowej, biomarkery.

Abstract

Tissue inflammation during periodontal diseases is mediated by host response to the accumulation of plaque in the gingival crevice/pocket, leading to destruction of supporting structures of the teeth. Traditional diagnosis of periodontal disease is based almost solely on clinical parameters and radiography. Nowadays, it is suggested that local host response in periodontal disease can be evaluated by biochemical analysis of gingival crevicular fluid (GCF). The study of GCF components offer great diagnostic potential as a source of factors that may be involved in immunoinflammatory reaction. The presence and level of host-derived humoral factors in GCF may have great value in evaluating both periodontal disease activity and the outcome of periodontal therapy. In this review diagnostic utility of acute-phase protein, as well as calprotectin, the protein that is thought to be a marker of inflammatory diseases, is discussed. Authors also describe phospholipid mediators of inflammatory and immune reactions, that is prostaglandin E₂, leukotriene C₄ and platelet activating factor. Usefulness of neopterin, an early and valuable marker of cellular immunity, and neuropeptides is characterized, as well (*Dent. Med. Probl.* 2011, 48, 2, 236–242).

Key words: periodontitis, gingival crevicular fluid, biological markers.

Choroby przyzębia, przede wszystkim przewlekłe zapalenie przyzębia, ze względu na powszechność występowania oraz poważne konsekwencje miejscowe i ogólne dla organizmu, zalicza się do chorób społecznych [1]. Powodują one nie tylko przedwczesną utratę uzębienia, ale mogą wywoły-

wać lub modyfikować liczne choroby ogólnoustrojowe. Coraz więcej informacji wskazuje na wyraźny związek chorób przyzębia z występowaniem niektórych chorób ogólnoustrojowych, takich jak miażdżyca, cukrzyca i obturacyjne choroby płuc [2–4]. Uważa się także, że zapalenie przyzębia jest

* Praca wykonana w ramach projektu finansowanego przez MNiSW (grant N N403 446237).

niezależnym czynnikiem ryzyka przedwczesnego porodu i małej masy urodzeniowej noworodka [5]. Można odnaleźć również doniesienia mówiące o istotnej roli czynników zapalnych w etiopatogenezie choroby Parkinsona oraz choroby Alzheimera [6]. Zapobieganie i skuteczne leczenie przewlekłego zapalenia przyzębia jest więc istotne nie tylko z punktu widzenia stomatologicznego, ale także ogólnolekarskiego.

Historycznie, według Armitage [7], w opisie chorób przyzębia wyróżnia się trzy główne paradygmaty: (1) kliniczny, (2) opierający się na klasycznej patologii oraz (3) zakładający odpowiedź gospodarza na drobnoustroje. Dominacja danego paradygmatu zależała od poziomu wiedzy. W latach 1870–1920 dominował paradygmat kliniczny, natomiast począwszy od lat dwudziestych aż do lat siedemdziesiątych ubiegłego stulecia dominujący wpływ na postrzeganie *periodontitis* miał paradygmat odnoszący się do klasycznej patologii. Od początku lat siedemdziesiątych ubiegłego wieku aż do dziś dominuje teoria o oddziaływaniach między gospodarzem a drobnoustrojami. Zakłada ona, że czynnikiem inicjującym rozwój chorób przyzębia są bakterie, ale procesy destrukcyjne w tkankach są wynikiem odpowiedzi immunologiczno-zapalnej gospodarza. Zgodnie z tą teorią, termin „zapalenie przyzębia” obejmuje wachlarz powiązanych chorób, lecz różniących się między sobą etiologią, przebiegiem i odpowiedzią na leczenie. Zapalenie przyzębia jest wywoływane i podtrzymywane przez czynniki wytwarzane przez mikroflorę przyzębia występującą w postaci biofilmu. Niektóre z tych czynników mogą w bezpośredni sposób niszczyć komórki i tkanki gospodarza [8]. Inne substancje wytwarzane przez drobnoustroje płytki aktywują humoralne i komórkowe gałęzie odpowiedzi immunologicznej oraz wywołują rozwój procesów zapalnych, które odpowiadają za drugorzędowe uszkodzenia tkanek przyzębia [9].

Mechanizmy immunologiczne w rozwoju zapaleń przyzębia

Mechanizmy odpornościowe są podstawowym czynnikiem protekcyjnym w przebiegu zakażenia bakteryjnego. Chronią m.in. przed rozprzestrzenianiem się oraz inwazją kolejnych tkanek przez drobnoustroje chorobotwórcze. W niektórych przypadkach mechanizmy odpornościowe mogą działać w nadmierny sposób, czyli destrukcyjny, a toczący się równocześnie proces zapalny może niszczyć komórki i tkanki dziąsła. Co więcej, badania ostatnich lat wykazują, że reakcja zapalna mediowana przez układ odpornościowy może się

gać dalej, aż do tkanki łącznej poniżej podstawy kieszonki dziąsłowej i doprowadzać do niszczenia kości wyrostka zębodołowego. Z tego powodu naturalnie rozwijające się procesy immunologiczno-zapalne mogą przyczynić się w znacznym stopniu do uszkodzeń tkanek obserwowanych w przebiegu *periodontitis* [9]. Choć mechanizmy przebiegające w tkankach przyzębia z udziałem układu odpornościowego mogą wydawać się podobne do tych, które zachodzą w całym organizmie, różnią się od nich w zasadniczy sposób. Jest to do pewnego stopnia uwarunkowane anatomią przyzębia, a zwłaszcza obecnością przepuszczalnego nabłonka łączącego, charakteryzującego się niezwykłą dynamiką napływu komórek i płynów. Co więcej, procesy zapalne i odpornościowe w tkankach przyzębia są odpowiedzią nie na jeden rodzaj drobnoustroju, ale są reakcją na wiele gatunków drobnoustrojów oraz na ich produkty oddziałujące na tkanki gospodarza przez długi czas [9, 10].

Powierzchnia nabłonka jamy ustnej jest miejscem pierwszego kontaktu organizmu z bakteriami kolonizującymi jamę ustną. Zahamowanie adhezji bakterii i kolonizacji nabłonka jest ważne z punktu widzenia mechanizmów odpornościowych i warunkowane licznymi mechanizmami, w tym przede wszystkim przepływem płynu kieszonki dziąsłowej (GCF) oraz składowymi tego płynu (przeciwciała, proteazy, składowe układu dopełniacza, przeciwbakteryjne składniki śliny). Błona śluzowa jamy ustnej jest barierą samą w sobie, ale należy podkreślić, że czynniki rozpuszczalne z nią związane warunkują jej protekcyjną rolę. Komórki nabłonka mogą ponadto odpowiadać na obecność bakterii przez produkcję i wydzielanie czynników bakteriobójczych oraz czynników prozapalnych. Nabłonek może odpowiadać na bodźce bakteryjne przez zmianę fenotypu (ekspresji cząsteczek na powierzchni komórek), m.in. cząsteczek adhezyjnych, a tym samym wzmacniać proces migracji komórek odpornościowych [11]. W początkowej fazie zapalenia przyzębia dochodzi do zwiększonego przepływu GCF oraz akumulacji granulocytów obojętnochłonnych z jednoczesną utratą tkanki łącznej. GCF stanowi przesącz osocza krwi, który zawiera dużą ilość białek układu dopełniacza. Aktywacja układu dopełniacza na drodze alternatywnej w kieszonce dziąsłowej doprowadza do nagromadzenia się składowych C3a oraz C5a. Oba białka mają charakter anafilatoksyn wywołujących uwalnianie z rezydujących w tkankach komórek tucznych histaminy. Ta amina powoduje zwiększenie przepuszczalności naczyń i powoduje powstawanie obrzęku dziąsła. Jednocześnie aktywowane składowymi dopełniacza, ale także czynnikami pochodzenia bakteryjnego, komórki tuczne uwalniają preformowany

w ziarnistościach cytoplazmatycznych czynnik martwicy nowotworu (TNF). Ta plejotropowa cytokina prozapalna odpowiada m.in. za zwiększenie ekspresji cząsteczek adhezyjnych na komórkach śródbłonna, co w efekcie sprzyja diapedezie neutrofilów [12].

Napływające do kieszonki dziąsłowej neutrofile nie są zdolne do fagocytozy występujących w postaci biofilmu bakterii. Uwalniają natomiast enzymy lizosomalne, doprowadzające do miejscowej destrukcji tkanek [9]. W przebiegu zapaleń przyzębia neutrofile mogą być aktywowane przez wiele czynników powstających w trakcie rozwijającej się reakcji zapalnej. Zwłaszcza, że komórki te charakteryzują się obecnością receptorów dla cytokin, chemokin, białek układu dopełniacza, fragmentów Fc immunoglobulin, adhezyn, białek ostrej fazy. Ocenia się, że neutrofile biorą udział w destrukcji przyzębia przez uwalnianie enzymów lizosomalnych zdolnych do destrukcji białek macierzy pozakomórkowej (ECM), reaktywne formy tlenu (RFT) (kwas podchlorawy, anionorodnik ponadtlenkowy, nadtlenek wodoru), syntetyzowane prozapalne pochodne kwasu arachidonowego, zwłaszcza prostaglandynę (PG)_{E2} i wydzielane cytokiny prozapalne, w tym interleukinę (IL)-1, IL-6, IL-8, TNF oraz czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów (GM-CSF) [13]. Wzrost ekspresji cząsteczek adhezji międzykomórkowej, selektyny E oraz ICAM-1, wraz ze zwiększoną syntezą IL-8 przez komórki nabłonka prowadzi do wzrostu intensywności gromadzenia się neutrofilów i ich przechodzenia przez nabłonek łączący. Dalsze zwiększanie przepuszczalności nabłonka łączącego prowadzi do penetracji tkanek przez czynniki pochodzenia bakteryjnego,

cytokiny i PGE₂ [14], a tym samym narastania odczuwanego już procesu zapalnego. Należy podkreślić, że w zmienionym zapalnie przyzębiu gromadzą się także makrofagi i fibroblasty. Komórki te są źródłem licznych cytokin prozapalnych, w tym głównie IL-1, IL-6 oraz TNF, a także metaloproteinaz (MMP) i enzymów proteolitycznych [15, 16].

Czynniki humoralne w GCF jako potencjalne biomarkery zapaleń przyzębia

Pomimo coraz lepszej znajomości etiologii i patogenezы zapaleń przyzębia, diagnostyka i klasyfikacja tych chorób jest nadal niemal wyłącznie oparta na tradycyjnej ocenie klinicznej i radiologicznej. Należy jednak podkreślić, że diagnoza periodontologiczna oparta na kryteriach klinicznych jest w znacznym stopniu subiektywna i retrospektywna. Brak precyzyjnych kryteriów klinicznych w diagnostyce stanu tkanek przyzębia doprowadził do poszukiwań wskaźników humoralnych, które mogłyby być przydatne w obiektywizacji rozpoznania i określeniu stopnia zaawansowania choroby, a także ocenie wyników leczenia. Obecnie wydaje się, że najlepszym materiałem do oceny wykładników humoralnych reakcji immunologiczno-zapalnej w tkankach przyzębia jest GCF. Według Armitage [17] kilkadziesiąt składowych GCF może znaleźć zastosowanie jako potencjalne markery diagnostyczne zapalenia przyzębia (tab. 1). Można je podzielić na trzy główne grupy: (1) mediatory zapalenia i czynniki modulujące odpowiedź immunologiczną, (2) enzymy gospodarza

Tabela 1. Czynniki humoralne wykrywane w GCF

Table 1. Humoral factors detected in GCF

Cytokiny i chemokiny (Cytokines and chemokines)	IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-11, IL-12, IL-15, IL-18, TNF, IFN- α , IFN- γ , EGF, GM-CSF, HGF, RANKL, TGF- α , TGF- β , VEGF, RANTES, MCP-1, OPG
Eikozanoidy (Eicosanoids)	PGE ₂ , LTB ₄ , PAF
Białka ostrej fazy (Acute-phase proteins)	CRP, transferyna, α 2-makroglobulina, α 1-antytrypsyna, inhibitor α 1-proteinazy
Inne czynniki endogenne (Others endogenous factors)	składowe dopełniacza, SP, VIP, neurokinina A, neopteryna, albumina, β 2-mikroglobulina, kalprotektyna, glutation, CD14, CD23, sE-selektyna, sICAM-1, osteoprotegeryna
Enzymy i ich inhibitory (Enzymes and inhibitors)	MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-8, MMP-9, MMP-13, TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3, TIMP-4, aminotransferaza asparaginianowa, elastaza, fosfataza zasadowa i kwaśna, tryptaza, chymaza, β -glukuronidaza, lizozym, katepsyny, glikozydazy, mieloperoksydaza, dehydrogenaza kwasu mlekowego, arylosulfataza, kinaza kreatynowa, sulfataza, β -N-acetyloheksosaminidaza, cystatyna, plazmina, aktywator plazminogenu, inhibitory aktywacji plazminogenu
Produkty destrukcji tkanek (Products of tissue destruction)	glikozaminoglikany (kwas hialuronowy, siarczan chondroityny), hydroksyprolina, osteonektyna, osteokalcyna, osteopontyna, laminina, fibryna, fibronektyna, ICTP

i ich inhibitory, (3) produkty uboczne destrukcji tkanek. Jest dużo danych, że szczególnie istotne znaczenie w diagnostyce chorób przyzębia może mieć ocena poziomu wybranych cytokin i chemokin w GCF [18]. Wielu autorów wskazuje jednak, że niezwykle przydatny i pomocny w diagnostyce i prognozowaniu chorób przyzębia może być również pomiar stężenia innych czynników humoralnych biorących udział w regulowaniu przebiegu procesów immunologiczno-zapalnych.

Podczas uszkodzenia tkanek, zakażenia i reakcji zapalnej dochodzi do gwałtownego wytwarzania wielu białek, tzw. białek ostrej fazy. Ze względu na swoje właściwości prozapalne pełnią one liczne funkcje w organizmie: aktywują dopełniacz, biorą udział w neutralizacji patogenów, stymulują naprawę i regenerację wielu tkanek. W tej grupie szczególnie istotne jest białko C-reaktywne (CRP); stężenie tego białka w ostrych stanach zapalnych może wzrastać nawet 1000-krotnie i dlatego ocena stężenia CRP w surowicy jest powszechnie stosowana w diagnostyce klinicznej. Wielokrotnie wykazano również, że stężenie CRP w surowicy jest znamienne wyższe u chorych z *periodontitis* niż u osób ze zdrowym przyzęciem [19–22]. Niewiele jest jednak prac, w których oceniano poziom CRP w GCF. Sibraa et al. [23] wykazali obecność CRP w GCF, ale nie stwierdzili różnic w stężeniu tego czynnika u osób zdrowych i pacjentów z przewlekłym zapaleniem przyzębia. Tüter et al. [24] obserwowali znamienne wyższe stężenie tego białka w surowicy pacjentów z przewlekłym zapaleniem przyzębia, ale nie stwierdzili zależności między stężeniem tego białka w GCF a stanem klinicznym. Ostatnio jednak, w badaniach przeprowadzonych na bardzo dużej grupie pacjentów, Fitzsimmons et al. [25] udokumentowali istotne statystycznie różnice w stężeniu CRP w GCF pacjentów z przewlekłym zapaleniem przyzębia w porównaniu do osób zdrowych. Autorzy ci wykazali również korelację między stężeniem CRP a stężeniem prozapalnej cytokiny IL-1 β oraz zależność między stężeniem tych dwóch biomarkerów a klinicznymi wykładnikami stanu przyzębia. Przeciwnie, Megson et al. [26] dowiedli obecność CRP w GCF zarówno u osób z *periodontitis*, jak i u osób periodontologicznie zdrowych oraz stwierdzili, że u niektórych pacjentów bez żadnych klinicznych objawów zapalenia przyzębia stwierdza się znaczące stężenia tego białka w GCF. Autorzy sugerują, że występowanie CRP w GCF nie jest wykładnikiem miejscowego procesu zapalnego w przyzębiu, ale raczej wskaźnikiem toczącego się procesu zapalnego w organizmie. Podejmowano także próby korelacji stężeń w GCF innych czynników zaliczanych do białek ostrej fazy, takich jak α 2-makroglobulina [27–30], transferyna [28, 30]

i α 1-antytrypsyna [28, 30] z klinicznymi wykładnikami stanu przyzębia. Wykazano, że stężenie α 2-makroglobuliny jest znamienne wyższe u pacjentów z zapaleniem przyzębia [27, 29, 30] i ulega istotnemu obniżeniu po wdrożeniu leczenia oraz dodatkowo koreluje z głębokością kieszonek przyzębnych (PD), wskaźnikiem stanu zapalnego dziąsła (GI) oraz aproksymalnym wskaźnikiem płytki (API) [27].

Kalprotektyna jest obecnie uważana za bardzo dobry wykładnik, podobnie jak CRP, toczącego się procesu zapalnego [31, 32]. Jest to białko syntetyzowane przede wszystkim przez neutrofile i wydzielane przez te komórki w trakcie infekcji bakteryjnej i zapalenia. Może także być przydatnym wskaźnikiem natężenia procesu zapalnego w tkankach przyzębia i aktywności granulocytów obojętnochłonnych [33]. Wskazano bowiem, że stężenie kalprotektyny w GCF wzrasta w trakcie indukowanego zapalenia dziąseł [34], a u osób z zaawansowanym zapaleniem przyzębia silnie koreluje ze stężeniem mieloperoksydazy (MPO) – wykładnika aktywności neutrofilów [35]. Stwierdzono ponadto, że stężenie kalprotektyny w GCF wykazuje bardzo silną dodatnią korelację ze stężeniem IL-1 β i ze stężeniem PGE₂, ważnych mediatorów prozapalnych [36]. Kaner et al. [35] zaobserwowali, że u osób z zaawansowanym zapaleniem przyzębia stężenie tego białka istotnie się obniża po zastosowaniu leczenia periodontologicznego. Należy podkreślić, że stężenie kalprotektyny w GCF dodatkowo koreluje z klinicznymi wskaźnikami periodontologicznymi, takimi jak GI oraz głębokość kieszonek [35, 37] i jest znamienne wyższe w miejscach krwawiących przy zgłębnikowaniu niż w miejscach niekrwawiących [36].

W przebiegu reakcji zapalnej dochodzi do aktywacji w wielu komórkach przemian fosfolipidów błonowych i syntezy silnych mediatorów prozapalnych, w tym przede wszystkim PGE₂, leukotrienu (LT)B₄ i czynnika aktywującego płytki (PAF). PGE₂ reguluje przepuszczalność naczyń, zwiększa odczuwanie bólu warunkowane bradykininami i histaminą, pobudza metabolizm w tkankach, zwiększa resorpcję kości. LTB₄ powoduje akumulację komórek odczynu zapalnego oraz aktywuje degranulację leukocytów wielojądrzastych (PMN). PAF zwiększa przepuszczalność naczyń krwionośnych, powoduje wzrost adhezji leukocytów do śródbłonna naczyń oraz jest istotnym czynnikiem chemotaktycznym dla monocytów i neutrofilów. Tsai et al. [38] wykazali, że stężenie PGE₂ oraz LTB₄ w GCF jest istotnie podwyższone u pacjentów z przewlekłym zapaleniem przyzębia w porównaniu z grupą kontrolną osób periodontologicznie zdrowych i wskazali, że stężenie PGE₂ dodatkowo koreluje ze stanem klinicznym przyzę-

bia, natomiast stężenie LTB_4 z dynamiką procesu zapalnego. Podobne obserwacje w odniesieniu do stężenia PGE_2 przedstawili również Zhong et al. [39]. Wykazano także, że stężenie PGE_2 w GCF wzrasta podczas postępującego nieleczonego zapalenia przyzębia [40]. Emingil et al. [41] wykazali, że stężenie LTB_4 w GCF jest istotnie wyższe u wszystkich badanych grup pacjentów z różnymi postaciami chorób przyzębia w porównaniu z grupą kontrolną. Co więcej, zaobserwowano różnice w stężeniu tego czynnika między poszczególnymi grupami pacjentów. U pacjentów z przewlekłym zapaleniem przyzębia stężenie LTB_4 w GCF było wyższe w porównaniu z pacjentami z uogólnionym agresywnym zapaleniem przyzębia oraz umiejscowionym agresywnym zapaleniem przyzębia czy zapaleniem dziąseł. Wyniki zgodne z tymi obserwacjami przedstawili Pradeep et al. [42]. Wykazali podwyższone stężenie LTB_4 u pacjentów z zapaleniem dziąseł i przewlekłym zapaleniem przyzębia w porównaniu do osób zdrowych. Zaobserwowano ponadto, że stężenie tego czynnika w GCF zmniejszało się po przeprowadzeniu pierwszej fazy leczenia periodontologicznego. Zaobserwowano też, że stężenie PAF w GCF jest istotnie większe u osób z zapaleniem przyzębia niż u osób periodontologicznie zdrowych [43–45] i zmniejsza się po wdrożonej terapii [44]. Feng et al. [45] wskazali ponadto, że stężenie tego czynnika w GCF dodatnio koreluje z wartościami PD, GI oraz stopniem utraty przyzępu łącznotkankowego (CAL).

Podjęto także próby oceny przydatności oznaczania stężenia neopteryny w GCF w prognozowaniu i diagnostyce zapalenia przyzębia. Neopteryna, metabolit 3-fosfoguanozyny, należy do grupy pterydyn i jest syntetyzowana głównie przez aktywowane makrofagi. Uważa się, że czynnik ten może być znakomitym wykładnikiem rozwijającej się odpowiedzi typu komórkowego, tym bardziej, iż jest łatwo oznaczalny w płynach biologicznych ze względu na dużą stabilność [46]. Ozmerić et al. [47] udokumentowali, że stężenie neopteryny w GCF jest znacznie wyższe u chorych z przewlekłym zapaleniem przyzębia niż u osób ze zdrowym przyzęciem. Pradeep et al. [48] w badaniach przeprowadzonych na dużej grupie pacjentów wskazali, że stężenie neopteryny w GCF było znacznie większe u pacjentów z przewlekłym zapaleniem przyzębia niż u pacjentów z zapaleniem dziąseł i osób periodontologicznie zdrowych, zmniejszało się po leczeniu niechirurgicznym i dodatnio korelowało z wartością CAL.

Do czynników, których obecność wykazano w GCF w przebiegu chorób przyzębia należą także neuropeptydy. Są to biologicznie aktywne substancje syntetyzowane głównie przez neurony

zarówno centralne, jak i obwodowe. Uczestniczą m.in. w rozszerzaniu naczyń krwionośnych i wzroście przepuszczalności śródbłonna naczyniowego, dzięki czemu warunkują rekrutację komórek odczynu zapalnego do miejsca infekcji [49]. Wiele danych wskazuje, że na komórkach układu odpornościowego, w tym monocytach/makrofagach, limfocytach i neutrofilach, znajdują się receptory dla neuropeptydów. Wśród neuropeptydów, których obecność oznaczano w GCF należy wymienić substancję P (SP), neurokininę A (NKA), naczynioaktywny polipeptyd jelitowy (VIP) oraz peptyd związany z genem dla kalcytoniny (CGRP). Podwyższone stężenia SP i NKA w GCF osób z zapaleniem przyzębia w porównaniu z osobami zdrowymi opisali Linden et al. [50]. Lundy et al. [49] udokumentowali, że wraz ze zmniejszeniem stanu zapalnego w obrębie tkanek przyzębia po wykonaniu SRP dochodzi jednocześnie do obniżenia stężenia SP w GCF. Ci sami badacze uzyskali podobne wyniki oceniając stężenie NKA w GCF u tej samej grupy pacjentów przed i po leczeniu. Pradeep et al. [51] wykazali dodatnią korelację między stanem klinicznym przyzębia a stężeniem SP nie tylko w GCF, ale również w surowicy krwi. Linden et al. [52] stwierdzili znacząco większe stężenie VIP w próbkach GCF pobranych od pacjentów z *periodontitis* w porównaniu z grupą kontrolną osób zdrowych oraz zmniejszenie stężenia tego czynnika w odpowiedzi na pierwszą fazę leczenia periodontologicznego. Niezwykle interesujące dane przedstawili Lundy et al. [53], którzy wskazali, że stężenie CGRP w GCF jest tym niższe, im bardziej zaawansowany jest proces zapalny w tkankach przyzębia.

Nieustanny rozwój diagnostyki powoduje, że na wiele chorób zaczyna się patrzeć z zupełnie innej perspektywy. Już nie tylko objawy kliniczne decydują o postawieniu prawidłowego rozpoznania, ale analiza bezpośrednich przyczyn. Wprowadzenie metod diagnostycznych opierających się na analizie podstaw immunologiczno-biochemicznych chorób przyzębia powinno umożliwić postawienie prawidłowej diagnozy, ale także ułatwić podjęcie decyzji o wdrożeniu odpowiedniego leczenia przed zaistnieniem w przyzębiu nieodwracalnych zmian. GCF jest miejscem aktywności czynników biologicznych mających ogromny potencjał w diagnostyce periodontologicznej. Wciąż jednak poszukuje się wskaźników, które ułatwiłyby podjęcie odpowiedniej decyzji dotyczącej postępowania z pacjentem. Informacje z piśmiennictwa dotyczące użyteczności diagnostycznej poszczególnych czynników humoralnych obecnych w GCF nie są jednoznaczne, a często sprzeczne i kontrowersyjne. Z pewnością jest konieczne podejmowanie wielokierunkowych dzia-

łań w celu obiektywizacji diagnostyki periodontologicznej, ponieważ jedynie wielowymiarowa analiza stężeń poszczególnych składowych GCF oraz ustalenie ich wzajemnej relacji w powiązaniu

ze stanem klinicznym tkanek przyzębia może być przydatnym wskaźnikiem aktywności choroby oraz oceny rezultatów prowadzonego leczenia.

Piśmiennictwo

- [1] PIHLSTROM B.L., MICHALOWICZ B.S., JOHNSON N.W.: Periodontal diseases. *Lancet* 2005, 366, 1809–1820.
- [2] GENDRON R., GRENIER D., MAHEU-ROBERT L.: The oral cavity as a reservoir of bacterial pathogens for focal infections. *Microbes Infect.* 2000, 2, 897–906.
- [3] SCANNAPIECO F.A., BUSH R.B., PAJU S.: Associations between periodontal disease and risk for nosocomial bacterial pneumonia and chronic obstructive pulmonary disease. A systematic review. *Ann. Periodontol.* 2003, 8, 54–69.
- [4] LALLA E.: Periodontal infections and diabetes mellitus: when will the puzzle be complete? *J. Clin. Periodontol.* 2007, 34, 913–916.
- [5] BOBETIS Y.A., BARROS S.P., OFFENBACHER S.: Exploring the relationship between periodontal disease and pregnancy complications. *J. Am. Dent. Assoc.* 2006, 137 Suppl., 7S–13S.
- [6] ROGERS J.: The inflammatory response in Alzheimer's disease. *J. Periodontol.* 2008, 79, 1535–1543.
- [7] ARMITAGE G.C.: Classifying periodontal diseases – a long-standing dilemma. *Periodontol.* 2000, 2002, 30, 9–23.
- [8] SCHAUDINN C., GORUR A., KELLER D., SEDGHIZADEH P.P., COSTERTON J.W.: Periodontitis: an archetypical biofilm disease. *J. Am. Dent. Assoc.* 2009, 140, 978–986.
- [9] OHLRICH E.J., CULLINAN M.P., SEYMOUR G.J.: The immunopathogenesis of periodontal disease. *Aust. Dent. J.* 2009, 54 Suppl. 1, S2–10.
- [10] BASCONES-MARTINEZ A., MUNOZ-CORCUERA M., NORONHA S., MOTA P., BASCONES-ILUNDAIN C., CAMPO-TRAPERO J.: Host defence mechanisms against bacterial aggression in periodontal disease: Basic mechanisms. *Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal.* 2009, 14, 680–685.
- [11] ANDRIAN E., GRENIER D., ROUABHIA M.: *Porphyromonas gingivalis*-epithelial cell interactions in periodontitis. *J. Dent. Res.* 2006, 85, 392–403.
- [12] STEINSVOLL S., HELGELAND K., SCHENCK K.: Mast cells – a role in periodontal diseases? *J. Clin. Periodontol.* 2004, 31, 413–419.
- [13] LAMSTER I.B., NOVAK M.J.: Host mediators in gingival crevicular fluid: implications for the pathogenesis of periodontal disease. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* 1992, 3, 31–60.
- [14] GEMMELL E., MARSHALL R.I., SEYMOUR G.J.: Cytokines and prostaglandins in immune homeostasis and tissue destruction in periodontal disease. *Periodontol.* 2000, 1997, 14, 112–143.
- [15] NISHIKAWA M., YAMAGUCHI Y., YOSHITAKE K., SAEKI Y.: Effects of TNF α and prostaglandin E $_2$ on the expression of MMPs in human periodontal ligament fibroblasts. *J. Periodontol. Res.* 2002, 37, 167–176.
- [16] COX S.W., ELEY B.M., KIILI M., SIKAINEN A., TERVAHARTIALA T., SORSA T.: Collagen degradation by interleukin-1 β -stimulated gingival fibroblasts is accompanied by release and activation of multiple matrix metalloproteinases and cysteine proteinases. *Oral Dis.* 2006, 12, 34–40.
- [17] ARMITAGE G.C.: Analysis of gingival crevice fluid and risk of progression of periodontitis. *Periodontol.* 2000, 2004, 34, 109–119.
- [18] KONOPKA Ł., BRZEZIŃSKA-BŁASZCZYK E.: Cytokiny w płynie kieszonki dziąsłowej jako potencjalne markery diagnostyczne i prognostyczne zapalenia przyzębia. *Dent. Med. Probl.* 2010, 47, 206–213.
- [19] PEJCIC A., KESIC L.J., MILASIN J.: C-reactive protein as a systemic marker of inflammation in periodontitis. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2011, 30, 407–414.
- [20] SALZBERG T.N., OVERSTREET B.T., ROGERS J.D., CALIFANO J.V., BEST A.M., SCHENKEIN H.A.: C-reactive protein levels in patients with aggressive periodontitis. *J. Periodontol.* 2006, 77, 933–939.
- [21] CRAIG R.G., YIP J.K., SO M.K., BOYLAN R.J., SOCRANSKY S.S., HAFFAJEE A.D.: Relationship of destructive periodontal disease to the acute-phase response. *J. Periodontol.* 2003, 74, 1007–1016.
- [22] NOACK B., GENCO R.J., TREVISAN M., GROSSI S., ZAMBON J.J., DE NARDIN E.: Periodontal infections contribute to elevated systemic C-reactive protein level. *J. Periodontol.* 2001, 72, 1221–1227.
- [23] SIBRAA P.D., REINHART R.A., DYER J.K., DUBOIS L.M.: Acute phase protein detection and quantification in gingival crevicular fluid by direct and indirect immunodot. *J. Clin. Periodontol.* 1991, 18, 101–106.
- [24] TÜTER G., KURTIS B., SERDAR M.: Evaluation of gingival crevicular fluid and serum levels of high-sensitivity C-reactive protein in chronic periodontitis patients with or without coronary artery disease. *J. Periodontol.* 2007, 78, 2319–2324.
- [25] FITZSIMMONS T.R., SANDERS A.E., SLADE G.D., BARTOLD P.M.: Biomarkers of periodontal inflammation in the Australian adult population. *Aust. Dent. J.* 2009, 54, 115–122.
- [26] MEGSON E., FITZSIMMONS T., DHARMAPATNI K., MARK BARTOLD P.: C-reactive protein in gingival crevicular fluid may be indicative of systemic inflammation. *J. Clin. Periodontol.* 2010, 37, 797–804.
- [27] ROSIN M., BENJAMIN P., ROGERS P., GIBSON M., VAN LEUVEN F., JOHNSON N.W., CURTIS M.: Elevated conversion of alpha-2-macroglobulin to the complexed form in gingival crevicular fluid from adult periodontitis patients. *J. Periodontol. Res.* 1995, 30, 436–444.
- [28] ADONOGIANAKI E., MOONEY J., KINANE D.F.: Detection of stable and active periodontitis sites by clinical assessment and gingival crevicular acute-phase protein levels. *J. Periodontol. Res.* 1996, 31, 135–143.

- [29] CHEN H.Y., COX S.W., ELEY B.M.: Cathepsin B, alpha2-macroglobulin and cystatin levels in gingival crevicular fluid from chronic periodontitis patients. *J. Clin. Periodontol.* 1998, 25, 34–41.
- [30] ADONOGIANAKI E., MOONEY J., KINANE D.F.: The ability of gingival crevicular fluid acute phase proteins to distinguish healthy, gingivitis and periodontitis sites. *J. Clin. Periodontol.* 1992, 19, 98–102.
- [31] STRÍZ I., TREBICHAŤSKÝ I.: Calprotectin – a pleiotropic molecule in acute and chronic inflammation. *Physiol. Res.* 2004, 53, 245–253.
- [32] KONDERA-ANASZ Z., MAREK Z., MIELCZAREK-PALACZ A., SIKORA J.: Calprotectin-structure and functions. *Pol. Arch. Med. Wewn.* 2006, 115, 248–253.
- [33] KIDO J., NAKAMURA T., KIDO R., OHISHI K., YAMAUCHI N., KATAOKA M., NAGATA T.: Calprotectin, a leukocyte protein related to inflammation, in gingival crevicular fluid. *J. Periodontal Res.* 1998, 33, 434–437.
- [34] QUE M.L., ANDERSEN E., MOMBELLI A.: Myeloid-related protein (MRP)8/14 (calprotectin) and its subunits MRP8 and MRP14 in plaque-induced early gingival inflammation. *J. Clin. Periodontol.* 2004, 31, 978–984.
- [35] KANER D., BERNIMOULIN J.P., KLEBER B.M., HEIZMANN W.R., FRIEDMANN A.: Gingival crevicular fluid levels of calprotectin and myeloperoxidase during therapy for generalized aggressive periodontitis. *J. Periodontal Res.* 2006, 41, 132–139.
- [36] KIDO J., NAKAMURA T., KIDO R., OHISHI K., YAMAUCHI N., KATAOKA M., NAGATA T.: Calprotectin in gingival crevicular fluid correlates with clinical and biochemical markers of periodontal disease. *J. Clin. Periodontol.* 1999, 26, 653–657.
- [37] NAKAMURA T., KIDO J., KIDO R., OHISHI K., YAMAUCHI N., KATAOKA M., NAGATA T.: The association of calprotectin level in gingival crevicular fluid with gingival index and the activities of collagenase and aspartate aminotransferase in adult periodontitis patients. *J. Periodontol.* 2000, 71, 361–367.
- [38] TSAI C.C., HONG Y.C., CHEN C.C., WU Y.M.: Measurement of prostaglandin E₂ and leukotriene B₄ in the gingival crevicular fluid. *J. Dent.* 1998, 26, 97–103.
- [39] ZHONG Y., SLADE G.D., BECK J.D., OFFENBACHER S.: Gingival crevicular fluid interleukin-1 β , prostaglandin E₂ and periodontal status in a community population. *J. Clin. Periodontol.* 2007, 34, 285–293.
- [40] PRESHAW P.M., HEASMAN P.A.: Prostaglandin E₂ concentrations in gingival crevicular fluid: observations in untreated chronic periodontitis. *J. Clin. Periodontol.* 2002, 29, 15–20.
- [41] EMINGIL G., CINARCIK S., BAYLAS H., COKER I., HÜSEYİNOV A.: Levels of leukotriene B₄ in gingival crevicular fluid and gingival tissue in specific periodontal diseases. *J. Periodontol.* 2001, 72, 1025–1031.
- [42] PRADEEP A.R., MANJUNATH S.G., SWATI P.P., SHIKHA C., SUJATHA P.B.: Gingival crevicular fluid levels of leukotriene B₄ in periodontal health and disease. *J. Periodontol.* 2007, 78, 2325–2330.
- [43] EMINGIL G., CINARCIK S., BAYLAS H., HÜSEYİNOV A.: Levels of platelet-activating factor in gingival crevicular fluid and gingival tissue in specific periodontal diseases. *J. Periodontol.* 2001, 72, 1032–1037.
- [44] KELES G.C., CETINKAYA B.O., ISILDAK I., KOPRULU H., ACIKGOZ G.: Levels of platelet activating factor in gingival crevice fluid following periodontal surgical therapy. *J. Periodontal Res.* 2006, 41, 513–518.
- [45] FENG W., WU T., SUN Q.F., YANG P.S., LIU X.L.: Detection of platelet-activating factor in unstimulated mixed saliva and gingival crevicular fluid of periodontitis patients with coronary heart disease. *Shanghai Kou Qiang Yi Xue.* 2010, 19, 228–231.
- [46] MURR C., WIDNER B., WIRLEITNER B., FUCHS D.: Neopterin as a marker for immune system activation. *Curr. Drug Metab.* 2002, 3, 175–187.
- [47] OZMERİÇ N., BAYDAR T., BODUR A., ENGIN A.B., URAZ A., EREN K., SAHIN G.: Level of neopterin, a marker of immune cell activation in gingival crevicular fluid, saliva, and urine in patients with aggressive periodontitis. *J. Periodontol.* 2002, 73, 720–725.
- [48] PRADEEP A.R., KUMAR M.S., RAMACHANDRAPRASAD M.V., SHIKHA C.: Gingival crevicular fluid levels of neopterin in healthy subjects and in patients with different periodontal diseases. *J. Periodontol.* 2007, 78, 1962–1967.
- [49] LUNDY F.T., MULLALLY B.H., BURDEN D.J., LAMEY P.J., SHAW C., LINDEN G.J.: Changes in substance P and neurokinin A in gingival crevicular fluid in response to periodontal treatment. *J. Clin. Periodontol.* 2000, 27, 526–530.
- [50] LINDEN G.J., MCKINNELL J., SHAW C., LUNDY F.T.: Substance P and neurokinin A in gingival crevicular fluid in periodontal health and disease. *J. Clin. Periodontol.* 1997, 24, 799–803.
- [51] PRADEEP A.R., RAJ S., ARUNA G., CHOWDHRY S.: Gingival crevicular fluid and plasma levels of neuropeptide Substance-P in periodontal health, disease and after nonsurgical therapy. *J. Periodontal Res.* 2009, 44, 232–237.
- [52] LINDEN G.J., MULLALLY B.H., BURDEN D.J., LAMEY P.J., SHAW C., ARDILL J., LUNDY F.T.: Changes in vasoactive intestinal peptide in gingival crevicular fluid in response to periodontal treatment. *J. Clin. Periodontol.* 2002, 29, 484–489.
- [53] LUNDY F.T., SHAW C., MCKINNELL J., LAMEY P.J., LINDEN G.J.: Calcitonin gene-related peptide in gingival crevicular fluid in periodontal health and disease. *J. Clin. Periodontol.* 1999, 26, 212–216.

Adres do korespondencji:

Łukasz Konopka
Zakład Immunologii Doświadczalnej
ul. Pomorska 251
92-213 Łódź
tel.: 042 675 73 06
e-mail: konopers@tlen.pl

Praca wpłynęła do Redakcji: 27.04.2011 r.
Po recenzji: 13.05.2011 r.
Zaakceptowano do druku: 23.05.2011 r.

Received: 27.04.2011
Revised: 13.05.2011
Accepted: 23.05.2011